

PCT/FR 2004/050693
16 DEC. 2004

REC'D 25 FEB 2005

WIPO

PCT

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

BEST AVAILABLE COPY

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 15 NOV. 2004

DOCUMENT DE PRIORITÉ

PRÉSENTÉ OU TRANSMIS
CONFORMÉMENT À LA
RÈGLE 17.1.a) OU b)Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLESIEGE
26 bis, rue de Saint-Petersbourg
75800 PARIS cedex 08
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23
www.inpi.fr



BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITE

26bis, rue de Saint-Petersbourg
75800 Paris Cédex 08
Téléphone: 01 53.04.53.04 Télécopie: 01.42.94.86.54

Code de la propriété intellectuelle-livre VI

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

DATE DE REMISE DES PIÈCES: N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL: DÉPARTEMENT DE DÉPÔT: DATE DE DÉPÔT:	Jean LEHU BREVATOME 3, rue du Docteur Lancereaux 75008 PARIS France
Vos références pour ce dossier: B14436DB-FD368	

1 NATURE DE LA DEMANDE				
Demande de brevet				
2 TITRE DE L'INVENTION				
PROCÉDE ET SYSTÈME D'ANALYSE D'UN ÉCHANTILLON LIQUIDE.				
3 DECLARATION DE PRIORITE OU REQUETE DU BENEFICE DE LA DATE DE DEPOT D'UNE DEMANDE ANTERIEURE FRANCAISE		Pays ou organisation	Date N°	
4-1 DEMANDEUR				
Nom	COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE			
Rue	31-33, rue de la Fédération			
Code postal et ville	75752 PARIS 15ème			
Pays	France			
Nationalité	France			
Forme juridique	Etablissement Public de Caractère Scientifique, Technique et Ind			
5A MANDATAIRE				
Nom	LEHU			
Prénom	Jean			
Qualité	Liste spéciale: 422-5 S/002, Pouvoir général: 7068			
Cabinet ou Société	BREVATOME			
Rue	3, rue du Docteur Lancereaux			
Code postal et ville	75008 PARIS			
N° de téléphone	01 53 83 94 00			
N° de télécopie	01 45 63 83 33			
Courrier électronique	brevets.patents@brevallex.com			
6 DOCUMENTS ET FICHIERS JOINTS		Fichier électronique	Pages	Détails
Texte du brevet		textebrevet.pdf	26	D 21, R 4, AB 1
Dessins		dessins.pdf	7	page 7, figures 15, Abrégé: page 4, Fig.4
Pouvoir général				

7 MODE DE PAIEMENT				
Mode de paiement		Prélèvement du compte courant		
Numéro du compte client		024		
8 RAPPORT DE RECHERCHE				
Etablissement immédiat				
9 REDEVANCES JOINTES		Devise	Taux	Quantité
062 Dépôt		EURO	0.00	1.00
063 Rapport de recherche (R.R.)		EURO	320.00	1.00
068 Revendication à partir de la 11ème		EURO	15.00	8.00
Total à acquitter		EURO		440.00

La loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique aux fichiers et aux libertés s'applique aux réponses faites à ce formulaire. Elle garantit un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI.

Signé par

Signataire: FR, Brevatome, J.Lehu

Emetteur du certificat: DE, D-Trust GmbH, D-Trust for EPO 2.0

Fonction

Mandataire agréé (Mandataire 1)



BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

Réception électronique d'une soumission

Il est certifié par la présente qu'une demande de brevet (ou de certificat d'utilité) a été reçue par le biais du dépôt électronique sécurisé de l'INPI. Après réception, un numéro d'enregistrement et une date de réception ont été attribués automatiquement.

Demande de brevet : ☒ X

Demande de CU : ☐

DATE DE RECEPTION	17 décembre 2003	Dépôt en ligne: <input checked="" type="checkbox"/> X Dépôt sur support CD: <input type="checkbox"/>
TYPE DE DEPOT	INPI (PARIS) - Dépôt électronique	
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL ATTRIBUE PAR L'INPI	0351095	
Vos références pour ce dossier	B14436DB-FD368	

DEMANDEUR

Nom ou dénomination sociale	COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE
Nombre de demandeur(s)	1
Pays	FR

TITRE DE L'INVENTION

PROCEDE ET SYSTEME D'ANALYSE D'UN ECHANTILLON LIQUIDE.

DOCUMENTS ENVOYES

package-data.xml	Requetefr.PDF	application-body.xml
Design.PDF	ValidLog.PDF	fee-sheet.xml
FR-office-specific-info.xml	Comment.PDF	textebrevet.pdf
dessins.pdf	indication-bio-deposit.xml	request.xml

EFFECTUE PAR

Effectué par:	J.Lehu
Date et heure de réception électronique:	17 décembre 2003 14:19:46
Empreinte officielle du dépôt	28:F4:D1:60:6D:1A:4D:71:39:88:36:56:18:CC:C2:A3:3A:E2:6C:06

/ INPI PARIS, Section Dépôt /

SIEGE SOCIAL
INSTITUT 20 bis, rue de Saint Pétersbourg
NATIONAL DE 75800 PARIS cedex 08
LA PROPRIÉTÉ Téléphone : 01 53 04 53 04
INDUSTRIELLE Télécopie : 01 42 53 59 30

PROCEDE ET SYSTEME D'ANALYSE D'UN ECHANTILLON LIQUIDE

DESCRIPTION

DOMAINE TECHNIQUE

5 L'invention concerne un procédé et un système d'analyse d'un échantillon liquide.

Le domaine d'application de cette invention est celui des méthodes d'analyse de liquides. Plus spécifiquement, l'invention s'applique à l'analyse automatisée de liquides en écoulement ou de liquides statiques (échantillons prélevés).

ETAT DE LA TECHNIQUE ANTERIEURE

L'analyse FIA (« Flow Injection Analysis »), ou analyse par injection d'analyte dans le flux liquide d'un porteur (ou fluide vecteur dans la suite), concerne une famille de techniques analytiques dont l'une est décrite dans le document référencé [1] en fin de description. Un premier principe commun à toutes les méthodes analytiques mises en œuvre en analyse FIA est la dispersion contrôlée d'un liquide dans un flux de liquide vecteur. La dispersion combine des effets de diffusion et des effets de dilution lors de l'écoulement dans un tuyau de petit diamètre.

25 Cette dispersion a lieu notamment lorsque une zone restreinte d'un liquide présent dans un tuyau à une concentration donnée est introduite dans un flux de liquide vecteur, grâce à la différence des vitesses d'écoulement entre les bords et le centre du tuyau. En même temps, la diffusion dilue les parties extrêmes de

la zone créant ainsi un gradient de concentration, surtout aux extrémités.

La compréhension des phénomènes de dispersion et des réactions chimiques qui s'y rajoutent est encore incomplète. Cependant, la plupart du temps, une compréhension poussée des phénomènes n'est pas nécessaire en vertu d'un second principe commun à toutes les méthodes analytique mises en œuvre en analyse FIA : la très bonne reproductibilité. En effet, avant la mise en œuvre de l'analyse FIA, il était souvent nécessaire d'obtenir, dans le procédé analytique, des réactions chimiques complètes afin d'atteindre des reproductibilités comparables. L'analyse FIA ne laisse souvent pas un délai suffisant à des réactions complètes, mais assure un temps de réaction identique et reproductible pour chaque analyse. Ainsi, chaque portion de l'échantillon subit des traitements différents, mais de façon reproductible entre les échantillons. Il s'agit d'une avancée significative dans l'analyse automatisée, notamment du fait de la réduction des temps d'analyse et l'allègement des interventions de l'utilisateur.

Les premières applications de l'analyse FIA utilisent un flux continu dans une seule direction : une zone de l'échantillon est injectée dans le flux continu d'un fluide vecteur. Au cours du temps, le flux continu crée le mélange permettant à la réaction du procédé analytique d'avoir lieu pour engendrer des espèces détectables. Comme illustré sur les figures la et lb, cette technique nécessite une pompe 10, une valve d'injection à deux voies 11, un détecteur en

ligne 12 et une boucle de réaction 13. Cette boucle 13 est constituée du tuyau séparant la valve d'injection 11 du détecteur 12. L'introduction de l'échantillon à analyser se fait par l'entrée E. S représente la sortie des effluents. Le choix des caractéristiques de la boucle (dimensions et forme) dépend du procédé analytique considéré. Le volume mort du détecteur est suffisamment faible pour la résolution demandée. Les caractéristiques de l'écoulement doivent être constantes et reproductibles. Ceci impose souvent un diamètre de tuyau constant. La fréquence analytique est imposée par les caractéristiques de la dispersion : elle est ainsi limitée afin d'éviter toute pollution entre échantillons successifs.

Les figures 1a et 1b représentent une séquence analytique typique. Dans un premier temps illustré sur la figure 1a, l'échantillon est passé dans une boucle d'injection jusqu'à ce que le contenu de la valve d'injection 11 soit représentatif de celui-ci. Comme illustré sur la figure 1b, la valve d'injection 11 est ensuite commutée pour permettre l'injection du contenu de la valve dans le flux de réactif. L'échantillon est ensuite dispersé dans le tuyau 13 par le flux continu pour être détecté dans le détecteur 12 lors de son passage.

Les avantages de la technique d'analyse FIA par rapport aux techniques antérieures sont une plus forte fréquence analytique, une plus faible consommation d'échantillon et une très bonne reproductibilité. Ses désavantages sont une plus grande consommation de réactifs, une plus grande consommation

de fluides vecteurs et une forte complexité des séquences pour des procédés nécessitant plusieurs étapes de traitement. Les réactifs supplémentaires nécessaires à la réaction chimique du procédé sont
5 introduits par des jonctions dans le flux de fluide vecteur. Chaque réactif doit ainsi être introduit par une dérivation, et possède donc un élément de pompage qui lui est propre.

L'analyse FIA telle que décrite ci-dessus
10 est largement utilisée en analyse automatisée et contribue à la grande majorité des publications dans le domaine. Une des avancées issue de la technique de l'analyse FIA est l'analyse par injection séquentielle.

L'analyse par injection séquentielle ou
15 analyse SIA (« sequential injection analysis ») et l'analyse FIA ont en commun le principe de dispersion et le maniement des fluides de façon reproductible. L'analyse SIA apporte, en plus, une utilisation d'un flux bidirectionnel et des périodes d'arrêt du fluide.
20 En outre, la valve à deux positions de l'analyse FIA est remplacée par une valve multidirectionnelle. L'analyse SIA peut ainsi analyser des solutions en utilisant des procédés chimiques plus compliqués, tout en conservant des composants technologiques
25 relativement fiables.

Les figures 2a à 2c, qui illustrent un système classique d'analyse SIA, représentent une valve multidirectionnelle 20, une boucle de mélange 21, et un détecteur 22, une boucle de rétention 23 et une pompe
30 bidirectionnelle 24.

En général l'analyse est effectuée en trois

séquences. La première séquence est le remplissage du système par une solution vecteur, par exemple de l'eau désionisée. L'objet de cette séquence est de pourvoir le système d'un vecteur inerte capable de transporter, y compris lors des inversions de flux, les zones de l'échantillon à analyser. La seconde séquence, comme illustrée sur les figures 2a et 2b, est l'aspiration alternée de zones d'échantillon, et du (des) réactif(s) nécessaire(s) R pour le procédé analytique sous la forme d'un train de zones, le tout étant disposé dans la boucle de rétention 23. La troisième séquence, comme illustrée sur la figure 2c, est la dispersion de ce train de zones dans la boucle de mélange 21 suivi du passage devant le détecteur 22. La formation d'un train de zones d'échantillon et de réactifs ne nécessite l'emploi que d'une seule pompe 24, contrairement au cas général de l'analyse FIA. Cependant, elle doit intégrer des contraintes supplémentaires liées au flux bidirectionnel.

Les avantages de l'analyse SIA par rapport à l'analyse FIA sont les suivants : un nombre plus restreint de composantes technologiques permettant l'application de procédés plus compliqués, une plus grande flexibilité apportée par la possibilité d'inversion du flux et une plus grande facilité d'optimisation sans nécessiter de recâblage. Cependant les volumes nécessaires, notamment en fluide vecteur, sont importants : typiquement 10 à 100 fois plus importants que les volumes de réactifs.

Plus récemment, une possibilité d'analyse séquentielle sans solution vecteur a été proposée,

l'analyse par CSIA. (« carrier-less sequential injection analysis » ou « analyse par injection séquentielle sans porteur »). L'analyse CSIA, décrite par exemple dans le document référencé [2], inclut les avantages de l'analyse SIA, dont le faible nombre de composantes technologiques, et évite les désavantages potentiels de l'utilisation d'un fluide vecteur qui sont, entre autres, un volume d'effluent analytique élevé lié au facteur de multiplication entre les volumes de réactifs et de solution vecteur.

Un système classique d'analyse CSIA se présente de façon analogue au système illustré sur les figures 2a à 2c. Cependant la séquence analytique est différente. Elle est, en général, effectuée selon les étapes suivantes : la boucle de rétention 23 est remplie d'analyte par aspiration par la pompe 24. Une portion de l'analyte est refoulée en direction de la boucle de mélange 21 et du détecteur 22. L'aspiration de l'analyte est complétée. Ensuite, les réactifs sont aspirés par basculement de la vanne multivoies 20. Un nouveau basculement de cette vanne 20 permet à la pompe 24 de refouler le réactif et l'analyte successivement dans la boucle de mélange 21 et le détecteur 22.

Par rapport à l'analyse SIA, l'élimination du fluide vecteur a pour conséquence l'utilisation d'un volume plus important d'analyte et une rétention dans une boucle suffisamment volumineuse.

La mise en œuvre de méthodes analytiques de titrage (ou analyses volumétriques) par ces techniques de dispersion contrôlée nécessite l'emploi de composants techniques additionnels. Comme illustré sur

la figure 3a, une solution technique consiste à utiliser une chambre de mélange 30, située entre la zone d'injection 31 et le détecteur 32, la pompe étant référencée 33. Lorsqu'un constituant est ajouté à un autre déjà présent dans la chambre de mélange 30, un gradient de concentration permettant le titrage est obtenu à la sortie de cette chambre 30, avant le passage devant le détecteur 32. Une autre solution consiste à utiliser deux pompes à débits variables de façon suffisamment précise : une pompe délivrant l'analyte, l'autre le titrant. Une boucle de réaction réalise un mélange partiel ou complet des solutions avant le passage devant une cellule de mesure en ligne. Le titrage s'effectue ensuite par l'établissement d'un gradient: le débit (ou la concentration) du titrant (ou de l'analyte) varie de façon continue dans le temps, d'autres propriétés du mélange étant maintenues constantes. Une telle solution, nécessitant des mesures individuelles successives, est consommatrice de temps. Le grand nombre de mesures individuelles n'en fait pas réellement une méthode continue.

Certaines solutions décrivent des techniques de titrage en continu par injection du titrant à des endroits géométriques définis le long d'un capillaire, dans lequel circule en permanence l'analyte. Comme décrit dans le document référencé [3] et comme illustré sur la figure 3b, l'analyte circulant dans un capilaire entrant en E, reçoit à chaque lieu d'injection un débit de titrant T. Après chaque ajout consécutif et après sa réaction chimique complète, l'état du mélange est mesuré par un détecteur 35. Les

ajouts consécutifs sont poursuivis jusqu'à l'épuisement de l'analyte. Une pré-dilution est nécessaire afin d'améliorer la précision.

Les volumes de l'analyte et des effluents
5 liquides peuvent être d'une grande importance, notamment dans le cas de prélèvements pouvant présenter des risques pour l'homme comme les solutions radioactives ou biologiques. Plus généralement, ceci
10 peut être le cas de solutions liquides à analyser issues d'un pré-traitement, par exemple d'une concentration, d'une séparation ou de toutes opérations chimiques ne pouvant être réalisées à plus grande
15 échelle. Ceci peut être également le cas de solutions de toutes sortes issues de dispositifs sub-millimétriques dont des puces microfluidiques.

Pour résumer, souvent les systèmes analytiques par analyse FIA ne peuvent être utilisés à cause de leur grande consommation de liquide vecteur et de réactif. Les systèmes analytiques par analyse SIA et
20 CSIA ne peuvent être utilisés non seulement à cause de leur grande consommation de fluides en général mais aussi à cause de l'importance des volumes et longueurs des boucles de rétention et réaction, difficilement compatibles avec les contraintes exigées par la plupart
25 des méthodes de fabrication des circuits miniaturisés.

De plus les systèmes analytiques par analyse FIA, SIA ou CSIA nécessitent l'utilisation de vannes, ce qui est pénalisant lorsque l'on cherche à miniaturiser l'analyse. En effet, l'installation de
30 vannes dans des circuits micro-fluidiques nécessite une étape technologique supplémentaire non-triviale. Les

analyses SIA et CSIA nécessitent l'emploi d'une pompe bi-directionnelle, qui peut poser certains soucis, notamment de dégazage entraînant la formation de bulles de gaz, perturbant grandement la reproductibilité des analyses surtout lorsque l'on cherche à réaliser une miniaturisation. Les analyses FIA, SIA et CSIA nécessitent l'injection d'un échantillon de façon reproductible, notamment en ce qui concerne son volume, ce qui est source de dérives analytiques.

Enfin, lorsque le procédé analytique nécessite des titrages, l'adjonction d'une chambre de mélange est généralement incompatible avec l'objectif fixé de miniaturisation.

L'objet de l'invention est d'apporter une solution technique aux problèmes soulevés ci-dessus, en proposant un procédé analytique automatisable amélioré par l'utilisation de moins de volume de réactifs et d'analyte, en l'absence de fluide vecteur, permettant d'effectuer des analyses volumétriques, notamment sur un flux continu, le tout sur des longueurs et dans des volumes compatibles avec les techniques de fabrication de circuits fluidiques miniaturisés.

EXPOSÉ DE L'INVENTION

L'invention concerne un procédé d'analyse d'un échantillon liquide par injection de celui-ci dans une boucle de réaction couplée à des moyens d'éclairage et à des moyens de détection, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

- remplissage d'une boucle de réaction par un volume minimal de l'échantillon à analyser, cette

boucle de réaction formant un tuyau transparent auquel sont couplés ces moyens de détection,

- injection d'un volume fixe d'au moins un réactif dans la boucle de réaction,

5 - détection par exemple de niveaux de lumière filtrée à l'aide de ces moyens de détection,

- évacuation des réactifs situés dans la boucle de réaction.

Avantageusement on détecte un gradient de concentration dans la boucle de réaction. La boucle de
10 réaction peut être un capillaire transparent ou un canal microfluidique. L'évacuation des réactifs situés dans la boucle de réaction peut être effectuée à l'aide de l'échantillon restant. Elle peut, également être
15 effectuée à l'aide de l'échantillon suivant.

Avantageusement le flux d'échantillon n'est pas interrompu ce qui permet une analyse en continu. On peut injecter successivement des volumes fixes de réactifs pendant des intervalles de temps pré-définis.
20 On peut ainsi réaliser une série de poussées de réactif à des débits de l'ordre de 10 à 1000 $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$ suivis d'un temps d'attente. On peut réaliser une détection linéaire le long de la boucle de réaction ce qui permet d'obtenir un relevé spatial et temporel des réactions
25 dans l'ensemble boucle de réaction + moyens de détection. On peut également réaliser une détection ponctuelle en un endroit de la boucle de réaction ce qui permet d'obtenir un relevé temporel des réactions en un endroit de l'ensemble boucle de réaction + moyens
30 de détection. Dans ce cas on peut utiliser un capteur

ponctuel apte à se déplacer le long de la boucle de réaction.

L'invention concerne également un système d'analyse d'un échantillon liquide comprenant une
5 boucle de réaction entre cet échantillon introduit par une entrée E et au moins un réactif, et des moyens de détection, caractérisé en ce que la boucle de réaction est constituée d'un tuyau transparent, et en ce que ledit système comprend un pousse-seringue dont la
10 sortie est reliée à la boucle de réaction permettant de délivrer dans cette boucle des doses de cet au moins un réactif, et des moyens d'éclairage permettant d'éclairer cette boucle de réaction de manière à ce que les moyens de détection enregistrent des niveaux de
15 lumière transmise par ladite boucle après filtrage.

Le tuyau transparent peut être un capillaire transparent ou un canal micro-fluidique. Les moyens de détection peuvent comprendre une barrette de diodes ou deux fibres optiques disposées de part et d'autre de la
20 boucle de réaction. Avantageusement une pompe péristaltique permet l'introduction de l'échantillon. Avantageusement une micro-vanne peut être disposée en amont de l'introduction de l'échantillon dans la boucle de réaction. Un embranchement en forme de T est relié
25 respectivement à l'entrée E d'échantillon, au pousse-seringue, et à la boucle de réaction.

Avantageusement l'invention décrit une technique d'analyse qui ne nécessite ni fluide vecteur, ni de boucle de rétention, ni forcément une vanne, ni
30 forcément une pompe bidirectionnelle. La boucle de réaction est également réduite en volume. Ce procédé ne

nécessite pas de connaître ou de mesurer le volume de l'échantillon. Son débit est également sans conséquence sur la mesure: l'échantillon peut être introduit au coup par coup de façon aléatoire en débit, en continu et/ou de façon gravitaire ou par capillarité. Ce
5 procédé permet également un titrage de solution en continu et en ligne, mais aussi de façon discontinue, avec une injection de réactifs à un seul débit.

Lors d'une analyse, l'échantillon peut être
10 introduit directement dans le dispositif, par une pompe ou un écoulement gravitaire. Il n'est besoin ni de connaître le volume de l'échantillon, ni de contrôler rigoureusement sa vitesse d'écoulement. La boucle de réaction et la zone de détection peuvent ainsi être des
15 zones d'écoulement continu de l'analyte. Lorsque l'on désire procéder à une analyse, le flux d'analyte peut éventuellement être arrêté par une vanne simple. Le volume fixe de réactif, parfaitement contrôlé, peut être introduit à une vitesse donnée de telle sorte
20 qu'un gradient de concentration du réactif dans l'analyte est établi. Un temps d'attente est souvent souhaitable afin que la diffusion homogénéise au moins partiellement la solution selon la section du canal. Il est possible d'injecter de cette façon, suivant des
25 chronologies et volumes bien établis, l'un après l'autre, d'autres réactifs ou de nouveau le réactif initial, ce qui permet de présenter au niveau du détecteur non seulement un mélange reproductible des différents réactifs, mais des gradients de mélange de
30 l'analyte dans les réactifs. Il est aussi possible par activation précise de la pompe à des débits faibles, de

faire passer devant un détecteur ponctuel, de façon continue dans le temps, le gradient de mélange établi dans la boucle de réaction. Le résultat peut être alors exprimé par le laps de temps nécessaire pour que le

5 détecteur fournisse une valeur fixée à l'avance. L'ensemble de détecteurs en ligne peut être, par exemple, un ensemble de conductimètres, potentiomètres ou un capteur CCD linéaire, qui fournissent par exemple une position correspondant à la détection d'un niveau

10 donné d'un paramètre, par exemple celle correspondant à la neutralisation d'un acide par une base, ce qui permet d'obtenir, par un calibrage préalable à la teneur d'un élément à analyser. Le capteur ponctuel peut aussi être mobile le long de la boucle de

15 réaction, par exemple un ensemble de fibres optiques montées sur un moteur pas à pas.

BRÈVE DESCRIPTION DES DESSINS

Les figures 1a et 1b illustrent une

20 technique analytique typique par analyse FIA.

Les figures 2a à 2c illustrent une technique analytique typique par analyse SIA.

La figure 3a illustre une technique analytique permettant un titrage par obtention, dans le

25 temps, d'un gradient de concentration.

La figure 3b illustre une technique analytique permettant un titrage continu.

Les figures 4a et 4b illustrent un premier exemple de mise en œuvre du procédé de l'invention.

30 Les figures 5a et 5b illustrent un second exemple de mise en œuvre du procédé de l'invention.

La figure 6a illustre une réponse typique d'une barrette à diodes lors d'un dosage suivant la technique décrite dans le second exemple.

5 La figure 6b illustre une courbe typique obtenue par la technique décrite dans le second exemple, représentant la position du virement de couleur du colorant en fonction de l'acidité sans charge de l'analyte.

10 Les figures 7a et 7b illustrent un troisième exemple de mise en œuvre du procédé de l'invention.

EXPOSÉ DÉTAILLÉ DE MODES DE RÉALISATION PARTICULIERS

15 Comme illustré par exemple sur la figure 4a, la présente invention concerne un système d'analyse d'un échantillon liquide comprenant une boucle de réaction 42, qui est constituée d'un tuyau transparent, par exemple un capillaire transparent ou d'un canal micro-fluidique, entre cet échantillon entré en E et au moins un réactif. Un pousse-seringue 43, dont la sortie est reliée à la boucle de réaction 42, permet de 20 délivrer des doses de cet au moins un réactif dans la boucle de réaction. Un embranchement 44 en forme de « T » permet l'introduction de l'échantillon et du (ou des) réactif(s) dans la boucle de réaction 42. Des 25 moyens d'éclairage, par exemple une diode électroluminescente, permettent d'éclairer la boucle de réaction 42 de manière à ce que des moyens de détection 41, par exemple une barrette de diodes, enregistrent des niveaux de lumière transmise par ladite boucle 30 après filtrage, ces niveaux étant représentatifs de

caractéristiques de l'échantillon mises en évidence par le mélange de celui-ci avec le (ou les) réactif(s).

Le procédé de l'invention comprend les étapes suivantes :

- 5 - remplissage de la boucle de réaction 42 par un volume minimal de l'échantillon à analyser,
- injection d'un volume fixe d'au moins un réactif dans la boucle de réaction 42,
- détection de niveaux de lumière filtrée à
10 l'aide des moyens de détection 41,
- évacuation des réactifs situés dans la boucle de réaction 42.

On va, à présent, étudier trois exemples de
15 réalisations selon l'invention.

Premier exemple : dosage acido-basique

Dans ce premier exemple, comme illustré sur les figures 4a et 4b, l'échantillon est introduit par
20 une pompe péristaltique 40. Le détecteur 41 est une barrette à diodes alignée sur la boucle à réaction 42, qui est dans cet exemple un capillaire transparent, mais peut être aussi un canal microfluidique. Un colorant, le bleu de bromothymol (BBT) est dilué dans une base
25 (NaOH) contenue dans la seringue d'un pousse-seringue 43.

Le pousse-seringue 43, muni d'une seringue de typiquement 100 à 500 μL , est capable de délivrer des doses de l'ordre de 1 μL de façon suffisamment
30 précise. La seringue est couplée en sortie au capillaire 42. L'échantillon issu de la pompe

péristaltique 40 rencontre en un embranchement en forme de T 44 le capillaire 42 fixé en sortie du pousse-seringue 43. Cet embranchement 44 est réalisé par les techniques de fabrication microfluidiques. Le
5 capillaire 42 en sortie de l'embranchement T 44, constituant la boucle de réaction des méthodes analytiques FIA et SIA, possède un diamètre intérieur de 100 à 500 μm . Sa longueur est de 0,5 à 10cm.

La barrette à diodes 41 est éclairée par un
10 une diode électro-luminescente, non représentée sur les figures 4a et 4b. Un filtre, non représenté, permet de distinguer clairement la coloration bleue du BBT en milieu plus basique de sa coloration jaune en milieu plus acide.

15 L'échantillon, dont le débit est quelconque, est entré en E et circule à travers l'embranchement 44, le capillaire 42 jusqu'à la sortie S. Le débit d'échantillon, issu d'un procédé chimique en aval de la zone de prélèvement, est de 0,5 $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$.
20 Au moment où l'on désire obtenir un dosage de l'acidité, le pousse-seringue 43 est activé à un débit de l'ordre de 10 à 1000 $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$, délivrant une quantité variable mais répétable de colorant, typiquement de l'ordre de 0,5 à 10 μL . Il s'établit ainsi un gradient
25 de concentration dans le capillaire 42 établissant une zone à coloration bleue plus basique, et une zone à coloration jaune plus acide. La barrette à diodes 41 enregistre les niveaux de lumière filtrée donnant ainsi des renseignements sur la portion de capillaire 42 en
30 face de chaque diode pour un temps donné après l'arrêt du mouvement du pousse-seringue 43. Le flux

d'échantillon peut être arrêté ou non pendant l'analyse. Dans cet exemple celui-ci est maintenu. Les mesures issues de la barrette 41 le long du capillaire 42, sont suivies dans le temps. Après un étalonnage de la réponse pour chaque élément, il est possible de donner une valeur de l'acidité de l'échantillon.

Les réactifs situés dans le capillaire 42 sont ensuite évacués par l'écoulement de l'échantillon. Un volume d'échantillon suffisant, typiquement 5 μL ou plusieurs fois le volume de la boucle de réaction 42, est nécessaire afin d'éviter un croisement trop important entre deux séquences analytiques de mesure.

Second exemple : dosage de l'acidité libre dans un milieu chargé

Dans cet exemple, comme illustré sur les figures 5a et 5b, la méthode analytique utilisée est celle du dosage de solutions chargées par la méthode à l'oxalate.

L'écoulement de la solution d'échantillon se fait de manière gravitaire et capillaire. Un échantillon de quelques dizaines de microlitres est présenté à l'embouchure E d'un capillaire 50 en amont d'une vanne 51 à l'aide d'un entonnoir ou de tout autre dispositif permettant le remplissage correct par capillarité et/ou gravitaire sur un faible volume. Le volume du capillaire 50 en amont de la vanne 51 est d'environ 10 fois supérieur à celui de la boucle de réaction 52. La vanne 51, de préférence une micro-vanne, dont le volume mort est très inférieur au volume de l'échantillon situé en amont d'un embranchement en

forme de T 53, permet d'arrêter l'écoulement de l'échantillon ou l'écoulement d'air lorsque l'échantillon est épuisé en amont de la vanne 51. La configuration des autres éléments est identique au premier exemple décrit ci-dessus, si ce n'est l'adaptation des filtres utilisés au colorant considéré. Les réactifs sont de la soude, un colorant virant vers pH 5,5 et un complexant, l'oxalate. Ce procédé se distingue de l'exemple précédent par la présence de plusieurs réactifs et par le fait que l'échantillon doit être dilué dans le réactif d'un facteur compris entre 20 et 500, afin de permettre la complexation suffisante de la charge.

Le débit de l'échantillon à travers l'embranchement 53, le capillaire 52 et le détecteur 54 est quelconque. Il peut être discontinu. Il est fixé par la configuration de l'ensemble.

Au moment où l'on désire effectuer le dosage de l'acidité libre, la vanne 51 est fermée pour éviter toute remontée de réactifs. Une première poussée du pousse-seringue 55, activé à un débit de 10 à 1000 $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$, délivre une quantité fixée à l'avance et répétable, typiquement de l'ordre de 0,5 à 10 μL . Un certain moment d'attente est nécessaire, typiquement de l'ordre de 10 secondes, afin d'homogénéiser très partiellement le mélange en fonction de la section du capillaire 52. Une seconde poussée identique de réactifs dilue de nouveau l'échantillon. D'autres combinaisons poussée/temps d'attente peuvent avoir lieu ensuite pour tenir compte des acidités à analyser. Comme dans le premier exemple, un gradient de

concentration est établi le long du capillaire 52. Son suivi dans le temps permet de calculer la valeur de l'acidité. La figure 6a représente un relevé typique de valeurs mesurées sur la barrette à diodes en fonction de la position de la diode dans la barrette 54 et donc sur le capillaire 52. La figure 6b représente une courbe de réponse typique de la position du point de virage de la coloration dans le capillaire 52 en fonction de l'acidité de l'analyte, en tenant compte de la dispersion des résultats sur 10 mesures faites dans un intervalle de temps de une semaine entre la première mesure et la dernière mesure.

Les réactifs situés dans le capillaire 52 sont ensuite évacués par l'écoulement de l'échantillon restant, par l'écoulement des bulles de gaz séparant les échantillons et par l'écoulement d'une portion de l'échantillon suivant. Le volume total de réactifs et échantillon consommé est de l'ordre de 3 à 15 μL .

20 Troisième exemple : dosage d'une espèce réagissant à un colorant spécifique, par exemple l'hydrazine en solution nitrique

Cet exemple, comme illustré sur les figures 7a et 7b, décrit le dosage de l'hydrazine en milieu nitrique par le DMAB (diméthylaminobenzaldéhyde) de manière à mesurer des concentrations en hydrazine en solution acide sur trois décades de l'ordre de 0,001 à 1 M. Cet exemple peut également être utilisé pour le dosages d'une espèce en solution par un réactif lorsque des dilutions de l'ordre de 10 à 10000 sont nécessaires.

L'échantillon d'hydrazine est introduit par une pompe péristaltique 60 avec un débit de $100 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$. Une vanne 61 est nécessaire pour isoler la partie en amont de celle-ci 61 de l'embranchement en forme de T 67, relié d'une part au pousse-seringue 63 et d'autre part au capillaire 66. En effet, en l'absence d'une telle vanne 60, lors d'une l'introduction de réactif, la tuyauterie souple 62 pourrait se dilater sous les à coups de pression délivrés par le pousse-seringue 63. Cet effet se traduirait par une moins bonne reproductibilité des mesures pour des intervalles de temps supérieurs à une journée. Le détecteur est un capteur ponctuel, constitué de deux fibres optiques 64 et 65 en regard à travers le capillaire 66, reliées à un spectrophotomètre et une source de lumière. Le réactif est une solution de DMAB à environ 0,1 M dans de l'acide nitrique 0,5 M.

Lorsque l'on souhaite effectuer une analyse, la pompe péristaltique 60 est arrêtée, et la vanne 61 fermée. Comme dans le second exemple, on effectue, à l'aide du pousse-seringue 63, une série de poussées du réactif à des débits de l'ordre de 10 à $1000 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ suivis d'un temps d'attente. Une mesure par spectrophotométrie permet de contrôler l'absorbance afin de décider si une nouvelle poussée de réactifs est nécessaire. Une fois le nombre de poussées nécessaire obtenu, l'absorbance en un point du capillaire 66 est mesurée en fonction temps écoulé depuis l'arrêt de la dernière poussée. Un calibrage préalable permet de donner une valeur de la concentration en hydrazine.

REFERENCES

- [1] US 4 315 754
- [2] US 5 849 592
- 5 [3] US 2003/032195

REVENDICATIONS

1. Procédé d'analyse d'un échantillon liquide par injection de celui-ci dans une boucle de réaction couplée à des moyens d'éclairage et à des
5 moyens de détection, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

- remplissage d'une boucle de réaction (42) par un volume minimal de l'échantillon à analyser,
10 cette boucle de réaction formant un tuyau transparent auquel sont couplés ces moyens de détection,

- injection d'un volume fixe d'au moins un réactif dans la boucle de réaction (42),

- détection de niveaux de lumière filtrée à
15 l'aide de ces moyens de détection (41),

- évacuation des réactifs situés dans la boucle de réaction (42).

2. Procédé selon la revendication 1, dans
20 lequel on détecte un gradient de concentration dans la boucle de réaction (42).

3. Procédé selon la revendication 1, dans lequel la boucle de réaction (42) est un capillaire
25 transparent ou un canal microfluidique.

4. Procédé selon la revendication 1, dans lequel l'évacuation des réactifs situés dans la boucle de réaction (42) est effectuée à l'aide de
30 l'échantillon restant.

5. Procédé selon la revendication 1, dans lequel l'évacuation des réactifs situés dans la boucle de réaction (42) est effectuée à l'aide de l'échantillon suivant.

5

6. Procédé selon la revendication 1, dans lequel le flux d'échantillon n'est pas interrompu ce qui permet une analyse en continu.

10

7. Procédé selon la revendication 1, dans lequel on injecte successivement des volumes fixes de réactifs pendant des intervalles de temps pré-définis.

15

8. Procédé selon la revendication 7, dans lequel on réalise une série de poussées de réactif à des débits de l'ordre de 10 à 1000 $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$ suivis d'un temps d'attente.

20

9. Procédé selon la revendication 1, dans lequel on réalise une détection linéaire le long de la boucle de réaction (42) ce qui permet d'obtenir un relevé spatial et temporel des réactions dans l'ensemble boucle de réaction + moyens de détection.

25

10. Procédé selon la revendication 1, dans lequel on réalise une détection ponctuelle en un endroit de la boucle de réaction (42) ce qui permet d'obtenir un relevé temporel des réactions en un endroit de l'ensemble boucle de réaction + moyens de

30

détection.

11. Procédé selon la revendication 10, dans lequel on utilise un capteur ponctuel apte à se déplacer le long de la boucle de réaction.

5 12. Système d'analyse d'un échantillon liquide comprenant une boucle de réaction entre cet échantillon introduit par une entrée (E) et au moins un réactif, et des moyens de détection, caractérisé en ce
10 que la boucle de réaction est constituée d'un tuyau transparent (42 ; 52 ; 66), et en ce que ledit système comprend un pousse-seringue (43 ; 55 ; 63) dont la sortie est reliée à la boucle de réaction permettant de délivrer dans cette boucle des doses de cet au moins un réactif, et des moyens d'éclairage permettant
15 d'éclairer cette boucle de réaction de manière à ce que les moyens de détection enregistrent des niveaux de lumière transmise par ladite boucle après filtrage.

20 13. Système selon la revendication 12, dans laquelle le tuyau transparent est un capillaire transparent ou un canal micro-fluidique.

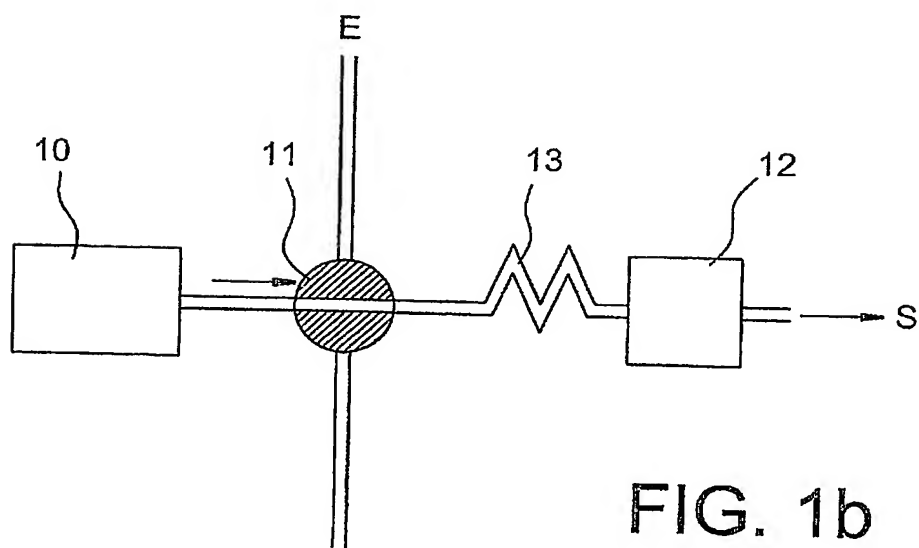
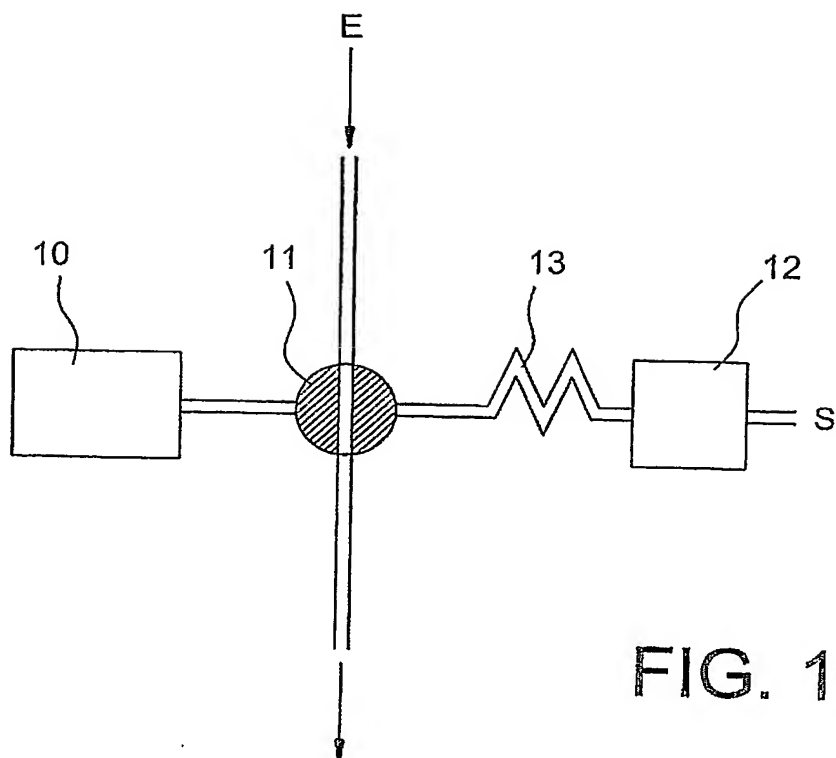
25 14. Système selon la revendication 12, dans lequel les moyens de détection comprennent une barrette de diodes (41 ; 54).

30 15. Système selon la revendication 12, dans lequel les moyens de détection comprennent deux fibres optiques (64 ; 65) disposées de part et d'autre de la boucle de réaction.

16. Système selon la revendication 12 comprenant une pompe péristaltique (40 ; 60) permettant l'introduction de l'échantillon.

5 17. Système selon la revendication 12 comprenant une micro-vanne (51 ; 61) disposée en amont de l'introduction de l'échantillon dans la boucle de réaction.

10 18. Système selon la revendication 12, dans un lequel un embranchement en forme de T est relié respectivement à l'entrée (E) d'échantillon, au pousse-seringue (43 ; 55 ; 63) et à la boucle de réaction (42 ; 52 ; 66).



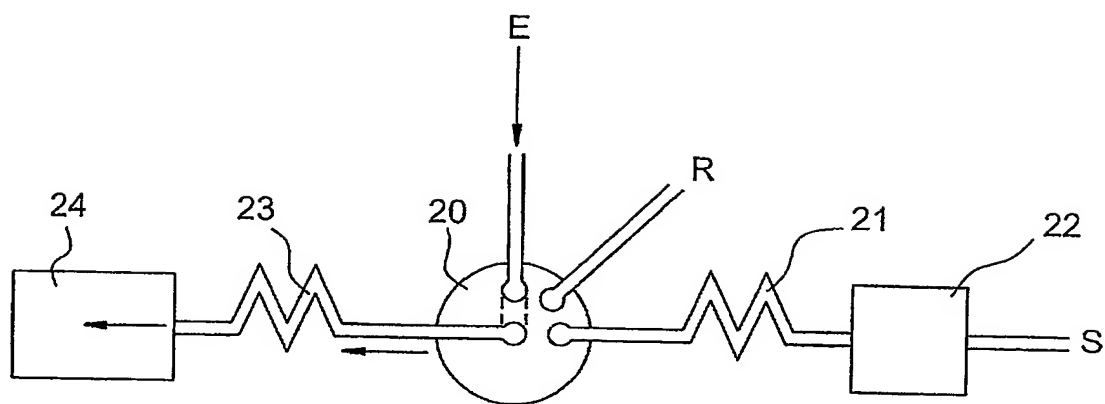


FIG. 2a

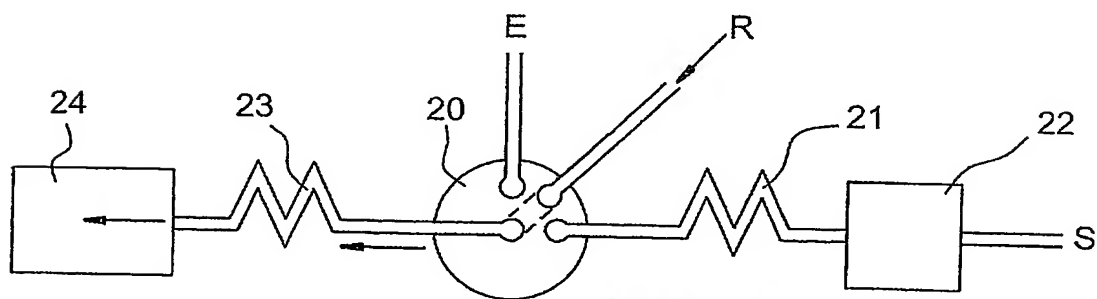


FIG. 2b

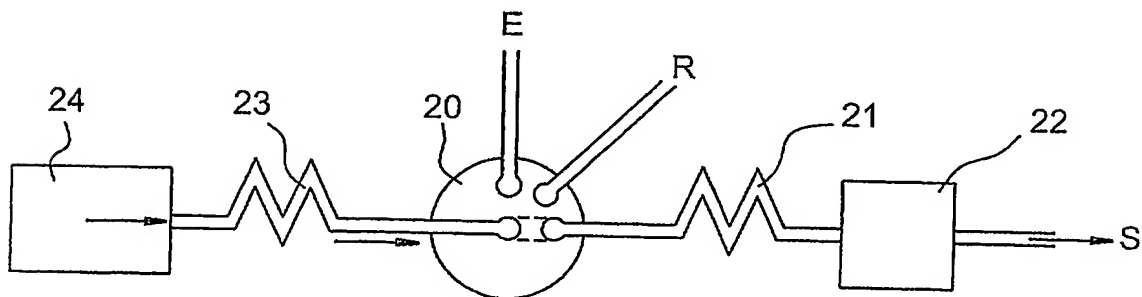
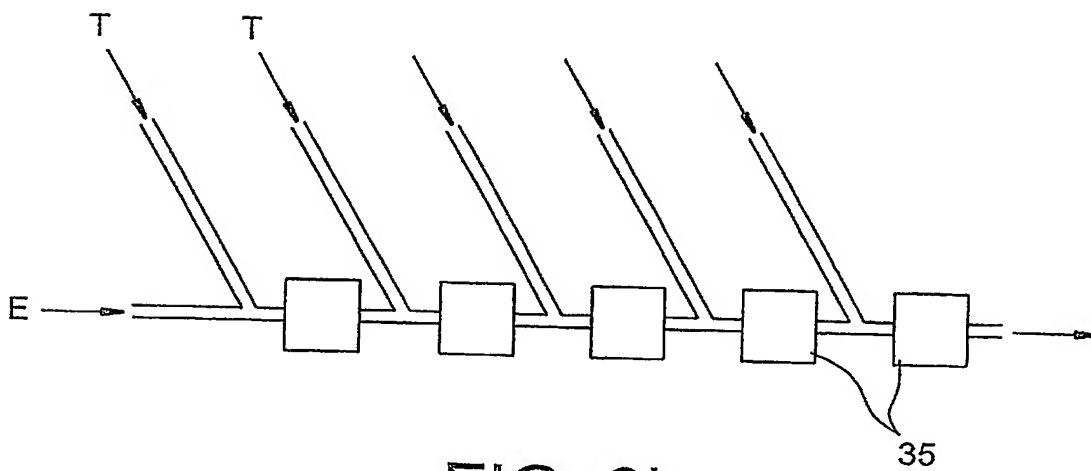
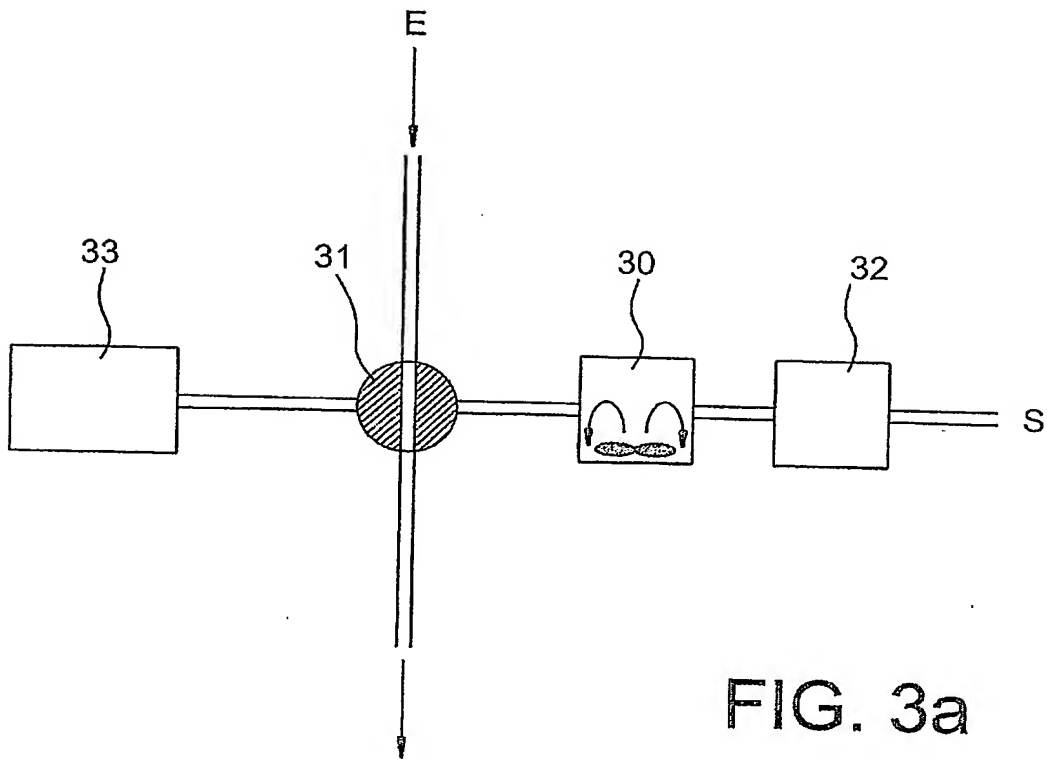
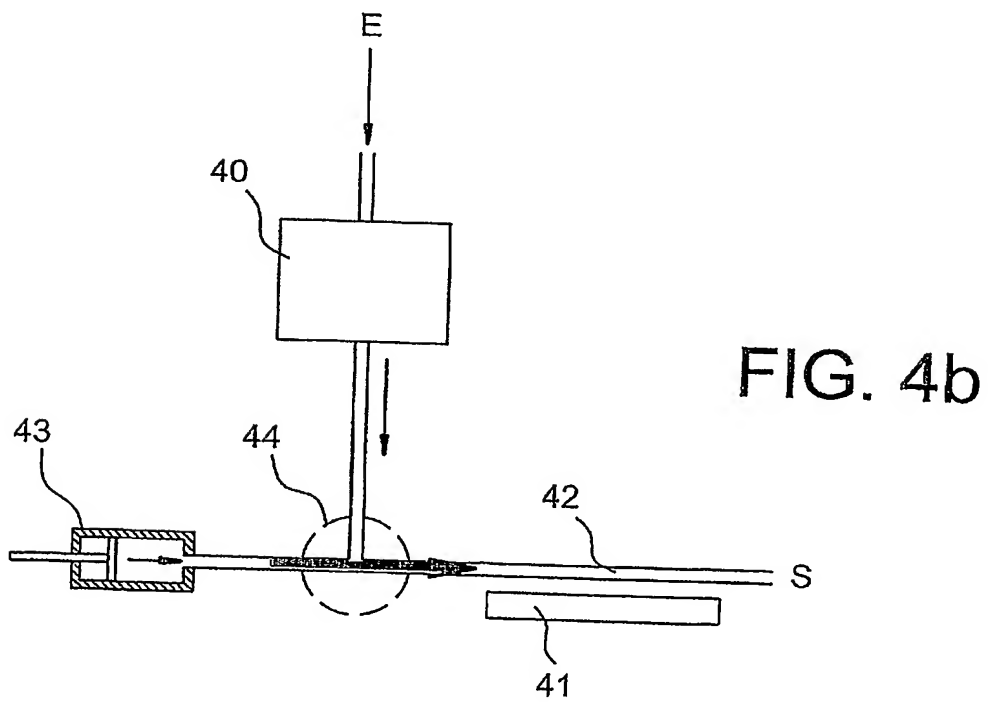
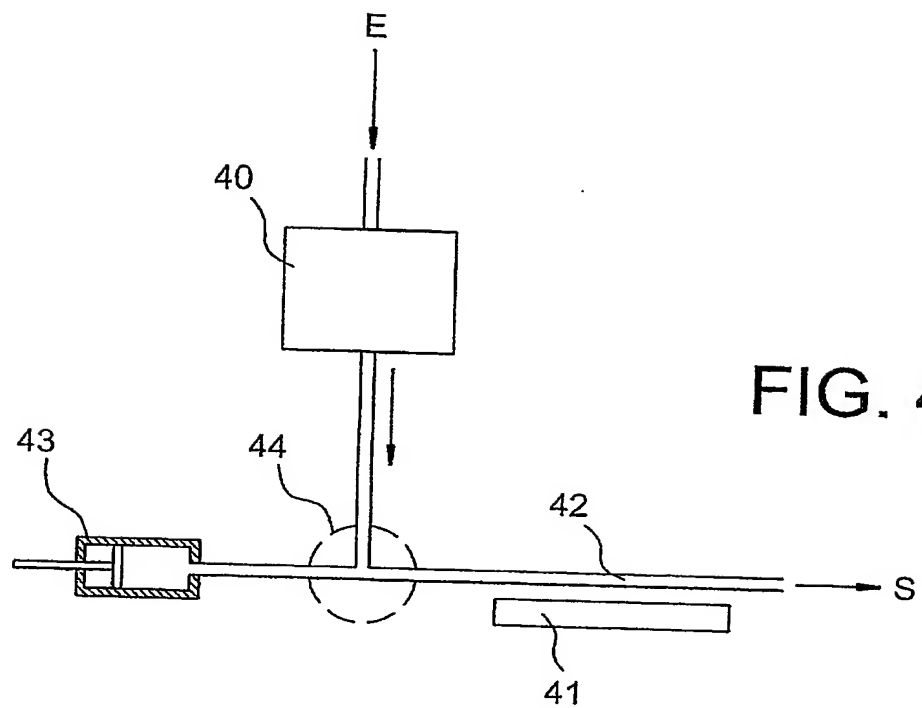
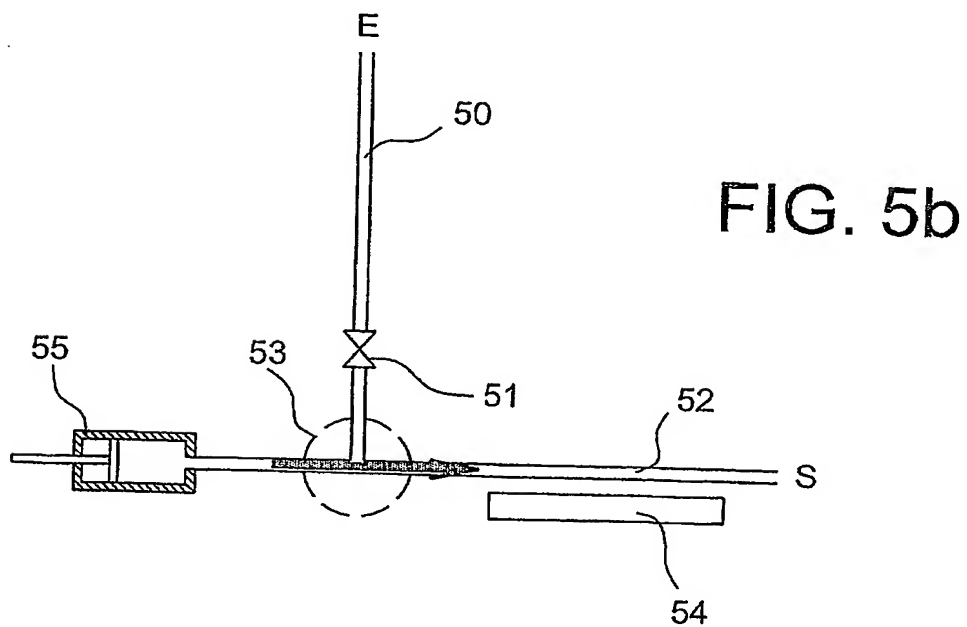
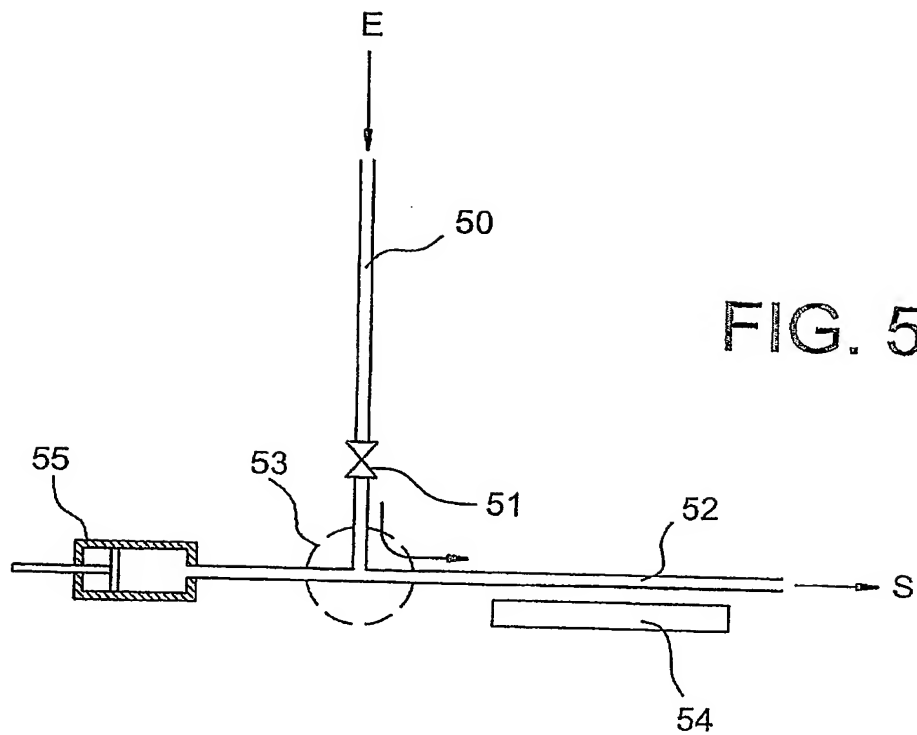


FIG. 2c







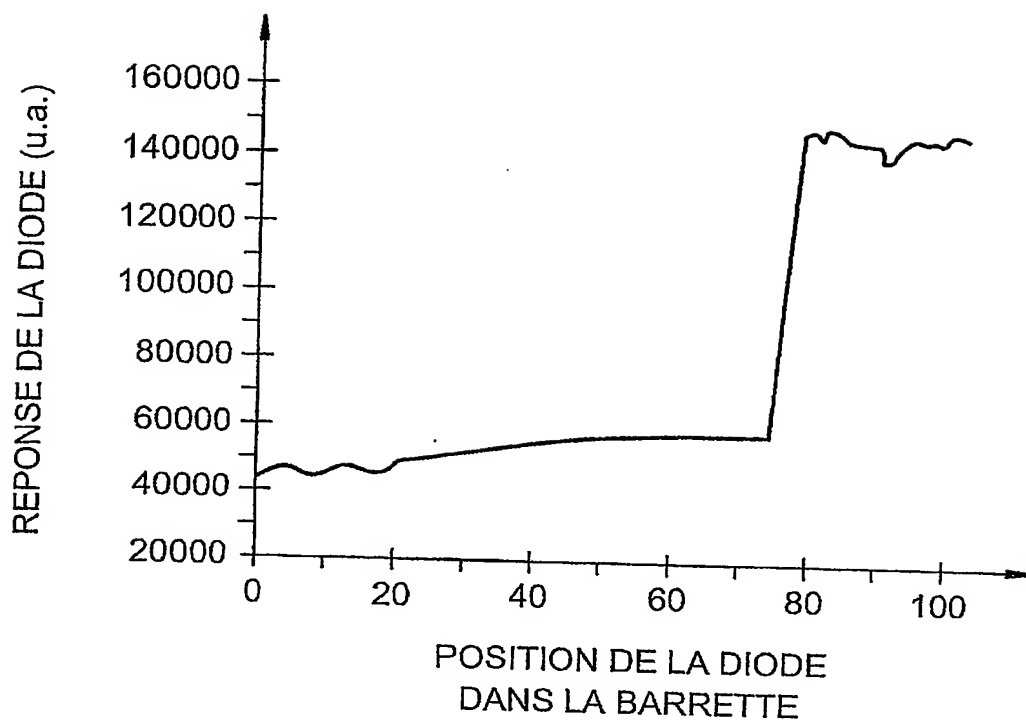


FIG. 6a

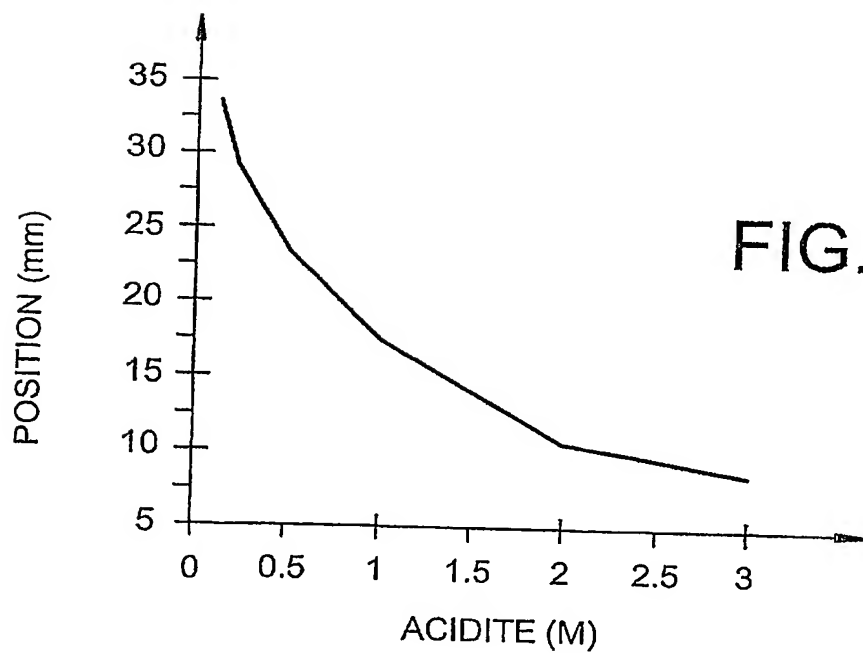


FIG. 6b

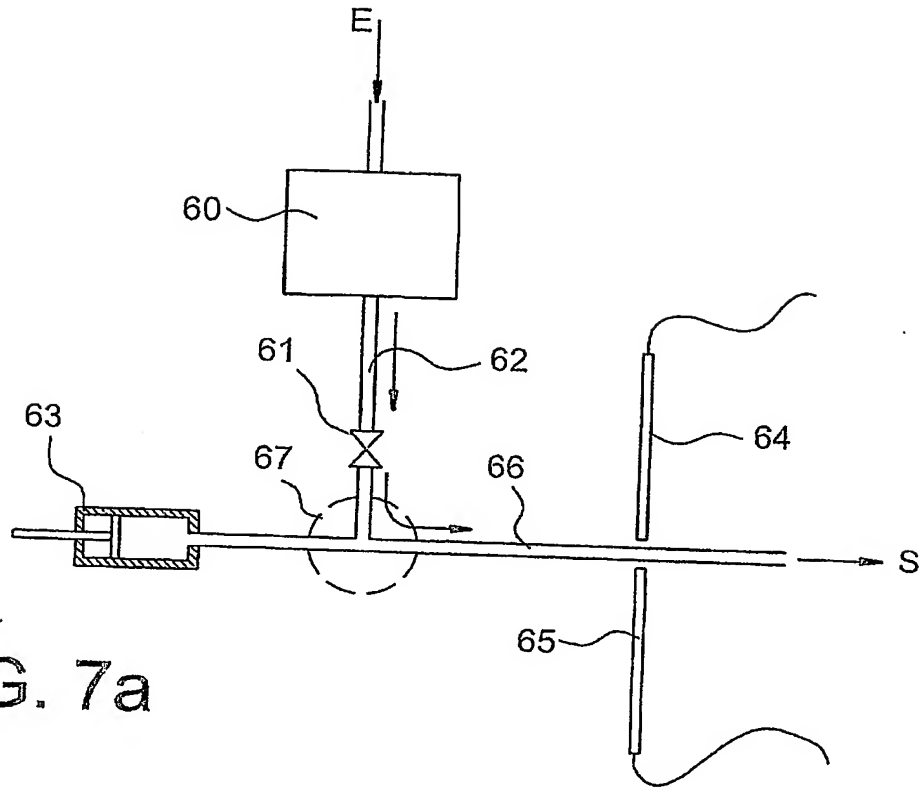


FIG. 7a

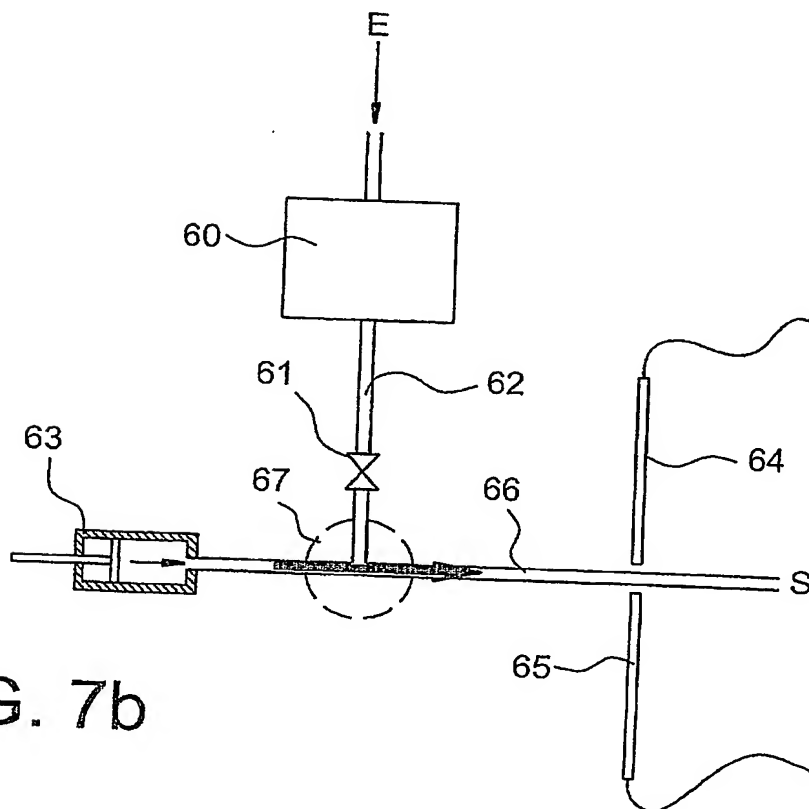


FIG. 7b

DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 1.../1...

(À fournir dans le cas où les demandeurs et les inventeurs ne sont pas les mêmes personnes)



Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 @ W / 270601

Vos références pour ce dossier (facultatif) B14436.3/DB
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL 03.51095 DU 17.12.2003

TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)

PROCEDE ET SYSTEME D'ANALYSE D'UN ECHANTILLON LIQUIDE.

LE(S) DEMANDEUR(S) :

COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE
31-33 rue de la Fédération
75752 PARIS 15 ème.

DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :

1	Nom	MAGNALDO
	Prénoms	Alastair
Adresse	Rue	325 Chemin des Côtes
	Code postal et ville	13 013 13 01 CONNAUX
Société d'appartenance (facultatif)		
2	Nom	DAVIN
	Prénoms	Thierry
Adresse	Rue	37 Les Lavandins
	Code postal et ville	18 141 814 10 LAPALUD
Société d'appartenance (facultatif)		
3	Nom	
	Prénoms	
Adresse	Rue	
	Code postal et ville	
Société d'appartenance (facultatif)		

S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez plusieurs formulaires. Indiquez en haut à droite le N° de la page suivi du nombre de pages.

DATE ET SIGNATURE(S)
DU (DES) DEMANDEUR(S)
OU DU MANDATAIRE
(Nom et qualité du signataire)

PARIS LE 13 JANVIER 2004
R.RICHARD
422.5S/002

R. Richard

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.